

بررسی اثرات گرسنگی و تغذیه مجدد بر روی متغیرهای خونی، سرمی و تجزیه تقریبی بدن بچه ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*)

آزاده زعفریان^۱، سکینه یگانه^{۱*}، حسین اورجی^۱، خسرو جانی خلیلی^۱

*skyeganeh@gmail.com

۱- گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

تاریخ پذیرش: اسفند ۱۳۹۴

تاریخ دریافت: آذر ۱۳۹۴

چکیده

این پژوهش به منظور بررسی اثرات دوره‌های گرسنگی و تغذیه مجدد بر متغیرهای خونی، سرمی و تجزیه تقریبی بدن در بچه- ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) انجام شد. ۲۴۰ قطعه بچه‌ماهی آزاد دریای خزر به وزن متوسط $13/73 \pm 0/63$ گرم در تانک‌های پلی‌اتیلنی ۳۰۰ لیتری نگهداری شدند. غذادهی با جیره تجاری قزل‌آلای رنگین‌کمان دو نوبت در روز در حد سیری انجام شد. آزمایش در ۱۰ هفته با یک تیمار شاهد (بدون گرسنگی) و ۳ تیمار گرسنگی که شامل ۲، ۴ و ۶ هفته گرسنگی و بعد ۴ هفته تغذیه مجدد بود، با ۳ تکرار به انجام رسید. میانگین دما، pH و اکسیژن محلول در آب طی دوره‌ی پرورش به ترتیب $14/15 \pm 0/27$ درجه سانتی‌گراد، $8/44 \pm 0/17$ و $6/34 \pm 0/24$ میلی‌گرم در لیتر برآورد شد. نتایج حاصل از اندازه‌گیری فاکتورهای خون افزایش معنی‌دار گلبول قرمز در تیمار با ۲ هفته گرسنگی ($0/893 \pm 0/58 \times 10^6/mm^3$) و افزایش درصد هماتوکریت در تیمار با ۶ هفته گرسنگی ($42/33 \pm 3/21\%$) را در پایان دوره گرسنگی نشان داد ($P < 0/05$). بیشترین میزان گلبول سفید پس از ۱۰ هفته، مربوط به تیمار ۶ هفته گرسنگی با $14/2 \pm 0/12 \times 10^3/mm^3$ و کمترین آن مربوط به تیمار شاهد با $10 \pm 0/60 \times 10^3/mm^3$ بوده است. نتایج حاصل از آنالیز بیوشیمیایی خون نشان داد که کمترین میزان پروتئین تام $1/71 \pm 0/88$ mg/dl و گلوکز $41/35 \pm 1/44$ mg/dl پس از اعمال گرسنگی با اختلاف معنی‌داری در تیمار با ۶ هفته گرسنگی وجود داشت ($P < 0/05$). در پایان دوره گرسنگی، میزان پروتئین بدن در تیمار شاهد کمتر از تیمارهای دیگر بود ($P < 0/05$)، اما پس از دو هفته تغذیه مجدد، میزان پروتئین در تیمارهای ۲ و ۴ هفته گرسنگی با تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری نشان نداد ($P > 0/05$). به طور کلی می‌توان گفت ماهی آزاد دریای خزر می‌تواند گرسنگی تا مدت زمان ۲ هفته را بدون تاثیر منفی بر فاکتورهای خونی و بیوشیمیایی سرم و تا ۴ هفته بر تجزیه تقریبی بدن تحمل کند.

واژه‌های کلیدی: ماهی آزاد دریای خزر، گرسنگی، تغذیه مجدد، تجزیه تقریبی، فاکتورهای خون

*نویسنده مسئول

مقدمه

تحت شرایط طبیعی، بسیاری از گونه‌های ماهی دوره طولانی مدت گرسنگی را پشت سر می‌گذارند که این دوره با تغییرات فصلی دسترسی غذا و همچنین مهاجرت‌های تولیدمثلی مرتبط می‌باشد (Feriedrich & Stepanowska, 2001). در بسیاری از گونه‌ها یک دوره بی‌غذایی، بخشی از چرخه طبیعی زندگی می‌باشد (شیروان و همکاران، ۱۳۹۲؛ Kulkari & Barad, 2015). با توجه به توانایی ماهیان در روبه‌رو شدن با دوره‌های کوتاه مدت گرسنگی، اجرای برنامه‌های محدودیت غذایی کوتاه مدت در مزارع پرورشی می‌تواند مزایای زیادی شامل مدیریت آسان تغذیه، مصرف بالای غذای در دسترس، آلودگی کمتر آب و بهبود کیفیت محصول نهایی (با کاهش چربی ماهیچه‌ها) را ایجاد کند، بدون اینکه تاثیر بازدارنده‌ای روی رشد ماهی داشته باشد (Einen et al., 1998؛ Rasmussen et al., 2000). یکی از عمده‌ترین هزینه‌های جاری در پرورش ماهیان مربوط به تغذیه آنها می‌باشد بطوریکه ۶۰-۴۰٪ هزینه‌های جاری در پرورش را به خود اختصاص داده است (Jobling, 2010). بنابراین یکی از روش‌های موثر در کاهش هزینه‌های غذا، استفاده از دوره‌های گرسنگی و تغذیه مجدد است که ممکن است موجب القای پاسخ رشد جبرانی شود. یکی از پدیده‌هایی که به دنبال گرسنگی اتفاق می‌افتد، رشد جبرانی است که محققان را به تحقیق در ارتباط با استفاده از گرسنگی به عنوان یک محرک برای رشد جبرانی علاقمند کرده است. رشد جبرانی فاز سریع‌الرشد و بیشتر از حالت طبیعی است که با تغذیه مجدد به دنبال یک دوره محرومیت غذایی بوجود می‌آید (Wang et al., 2005) و شامل پرخوری، افزایش جذب غذا و بهبود کارایی تبدیل غذا می‌باشد (Boujard, 2000). در بسیاری از گونه‌ها تغییرات بیوشیمیایی و مکانیسم فیزیولوژیک به ماهی کمک می‌کند تا از عهده شرایط نامطلوب محرومیت غذایی برآید (Caruso et al., 2012). ارزیابی فراسنجه‌های خون و بیوشیمیایی سرم اطلاعات با ارزشی در رابطه با ارزیابی واکنش‌های فیزیولوژیک در رژیم‌های مختلف تغذیه‌ای در ماهی فراهم می‌کند (Bani & Vayghan, 2011). محرومیت غذایی

به طور کلی در ارتباط با استفاده مناسب از منابع انرژی (گلیکوژن، چربی یا پروتئین) به منظور حفظ هموستازی ماهی است (Caruso et al., 2012). ماهی آزاد دریای خزر جزو گونه‌های شاخص و منحصر به فرد دریای خزر بشمار می‌رود که بقای نسل آن به دلیل صید بی‌رویه و تخریب زیستگاه‌ها و مناطق تخم‌ریزی به خطر افتاده است (نادری جلودار و عبدلی، ۱۳۸۳). در این راستا، سازمان شیلات به منظور بازسازی ذخایر این ماهی اقدام به تکثیر مصنوعی و پرورش آن نموده است (رحمتی و همکاران، ۱۳۸۹). شاید با استفاده از دوره‌های محرومیت غذایی به عنوان یک راه‌کار مناسب بتوان برای صرفه‌جویی در هزینه و همچنین در جهت القای رشد جبرانی پس از دوره‌های محرومیت غذایی گام برداشت. علاوه بر این، می‌توان نسبت به عکس‌العمل فیزیولوژیک ماهی تحت گرسنگی در شرایط طبیعی آگاهی یافت. تاکنون مطالعاتی در مورد تاثیر محرومیت غذایی و تغذیه مجدد بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی قزل آلا رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) (ایمانی و ایرانپرست، ۱۳۸۸)، رشد جبرانی و برخی فاکتورهای بیوشیمیایی سرم در ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) (رحمتی و همکاران، ۱۳۸۹)، رشد و بازماندگی بچه‌ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus kuttum*) (محمدنژاد شמושکی و همکاران، ۱۳۸۹)، رشد جبرانی ماهی بارب حلب (*Barbonymus schwanenfeldi*) (اسلاملو و همکاران، ۱۳۹۲)، بافت کبد بچه‌ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo caspius*) (خدابنده و همکاران، ۱۳۹۲)، فاکتورهای خون‌شناسی و متابولیسمی مارماهی اروپایی (*Anguilla anguilla*) (Johansson- Sjöbeck et al., 1975)، پاسخ فیزیولوژیک مارماهی اروپایی (*Anguilla anguilla*) و red porgy (*Pagrus pagrus*) (Caruso et al., 2010, 2012) و فعالیت آنزیم‌های گوارشی ماهی کلمه (*Rutilus caspicus*) (Abolfathi et al., 2012) انجام شده است. اما با توجه به اهمیت این گونه و تاثیر متفاوت شرایط و دوره‌های محرومیت غذایی بر آبریان، در این مطالعه اثرات گرسنگی و تغذیه مجدد بر روی تجزیه تقریبی بدن و برخی از

فاکتورهای خونی و سرم خون ماهی آزاد دریای خزر بررسی گردید.

مواد و روش‌ها

۲۴۰ قطعه بچه‌ماهی آزاد دریای خزر با وزن متوسط $13/73 \pm 0/63$ گرم از مرکز تحقیقات ماهیان سردآبی کشور واقع در تنکابن خریداری و به سالن پرورش دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری منتقل شد. ماهی‌ها شمارش گردیده و به طور کاملاً تصادفی به تانک‌ها منتقل شدند. دو هفته برای سازگاری ماهیان در شرایط جدید در نظر گرفته شد. آزمایش در ۴ تیمار، هر تیمار در ۳ تکرار انجام و در هر تکرار ۲۰ قطعه ماهی قرار گرفت. ماهی‌ها در تیمارهای ۲، ۴ و ۶ هفته گرسنگی و ۴ هفته غذادهی مجدد و گروه شاهد که ۱۰ هفته کامل غذادهی داشت توزیع شدند (Abolfathi, Peterson & Small, 2004). *et al.*, 2012). پرورش در تانک‌های پلی‌اتیلنی ۳۰۰ لیتری (با ظرفیت آبگیری ۲۵۰ لیتر) در سالن پرورش گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری به مدت ۱۰ هفته انجام شد. روزانه ۸۰٪ از آب تعویض شد. فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب شامل درجه حرارت به صورت روزانه و اکسیژن محلول (توسط اکسیژن‌متر، مدل CMD200) و pH (توسط pH متر، مدل Sartorius, PB11) بصورت هفتگی اندازه‌گیری شدند. غذای مورد استفاده در این پژوهش، از شرکت تعاونی تولیدی خوراک دام طیور و آبزیان بهدانه شمال تهیه شد که ترکیب آن شامل، پروتئین ۴۵/۹۷٪، چربی ۱۸٪، خاکستر ۵/۸۷٪ و رطوبت ۸/۲۲٪ بود. غذادهی روزی ۲ بار در حد سیری انجام شد. زیست‌سنجی به صورت کاملاً تصادفی و در ابتدای دوره، پس از گرسنگی، پس از ۲ هفته و ۴ هفته تغذیه مجدد انجام شد. در هر مرحله از نمونه‌برداری حدود ۱۲ قطعه ماهی از هر تیمار (۴ قطعه از هر تکرار) جمع‌آوری شد. به منظور جلوگیری از استرس در زمان زیست‌سنجی، ماهی‌ها توسط پودر گل میخک به مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بیهوش شدند (Afkhami *et al.*, 2014). به منظور اندازه‌گیری طول و وزن در روزهای نمونه‌برداری، ۳۰٪ از هر تکرار صید شدند.

اندازه‌گیری وزن با استفاده از ترازوی ۰/۰۱ گرم (مدل DC127) و طول ماهیان با استفاده از خط‌کش با دقت ۰/۱ میلی‌متر انجام شد.

عملیات خون‌گیری از قسمت انتهای باله مخرجی به وسیله سرنگ ۲ سی‌سی انجام گرفت و بخش اول نمونه‌های خون پس از افزودن ماده ضد انعقاد خون در تیوپ‌های اپندروف شماره‌گذاری شده به آزمایشگاه منتقل شدند. فراسنجه های خونی مورد بررسی شامل گلبولهای قرمز (RBC) و سفید (WBC) بر اساس Houston (1990)، غلظت هموگلوبین (Hb) و درصد هماتوکریت (Hct) بر اساس Drabkin (1945) و میانگین حجم گلبول قرمز (MCV)، میانگین هموگلوبین در گلبول قرمز (MCH) و میانین غلظت هموگلوبین در گلبول قرمز (MCHC) بر اساس روابط ذیل محاسبه شد (Houston, 1990):

$$MCV = (Hct / RBC) \times 10$$

$$MCH = (Hb / RBC) \times 10$$

$$MCHC = (Hb / Hct) \times 100$$

بخش دوم نمونه‌های خون در لوله‌های فاقد ماده ضد انعقاد خون قرار گرفتند و پس از تشکیل لخته، سرم خون با استفاده از میکروسانتریفوژ (به مدت ۶ دقیقه و دور rpm ۱۳۰۰۰) توسط سمپلر از لخته جدا شده و در میکروتیوپ‌های جداگانه قرار گرفت. نمونه‌های سرم جداسازی شده تا زمان اندازه‌گیری متغیرهای سرمی در فریزر با دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. اندازه‌گیری پروتئین تام، آل‌بومین و گلوکز بر اساس (Olesen & jorgensen, 1986) با استفاده از کیت‌های شرکت پارس آزمون ایران و دستگاه اسپکتروفتومتر (UV-Vis M51، شرکت BEI Engineering ایتالیا) انجام شد.

تجزیه تقریبی کل بدن و جیره‌های غذایی بر اساس روش‌های استاندارد AOAC انجام گرفت (AOAC, 1997). رطوبت از طریق قراردادن نمونه در آون با دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد و توزین آن پس از خنک شدن در دسیکاتور انجام شد. اندازه‌گیری پروتئین با روش کلدال و چربی با روش سوکسله و حلال اتر صورت گرفت. خاکستر نمونه‌ها

از طریق سوزاندن نمونه در کوره با دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶ ساعت و توزین آن صورت پذیرفت. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و هر تیمار سه تکرار انجام شد و تجزیه و تحلیل داده‌های بدست آمده به صورت آزمایش فاکتوریل با بررسی عامل گرسنگی در ۴ سطح (صفر، ۲، ۴ و ۶ هفته) و عامل زمان (ابتدای آزمایش، پس از گرسنگی، ۲ و ۴ هفته پس از تغذیه مجدد) به روش آنالیز واریانس دوطرفه (Two-Way-ANOVA) انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون آماری دانکن در سطح احتمال ۹۵ درصد استفاده شد. از نرم‌افزار SPSS22 برای آنالیز آماری و از نرم‌افزار Excel برای رسم نمودارها استفاده گردید.

نتایج

در طول آزمایش مقدار متوسط دما برابر با $14/15 \pm 0/27$ درجه سانتی‌گراد، pH برابر با $8/44 \pm 0/17$ ، اکسیژن محلول برابر با $6/34 \pm 0/24$ میلی‌گرم در لیتر، نیتريت برابر با $0/15$ میلی‌گرم در لیتر، هدایت الکتریکی برابر با $598/13 \pm 12/8$ میکروزیمنس بر سانتی‌متر، شوری برابر با $0/4$ قسمت در هزار و TDS برابر با $381/2 \pm 4/41$ میلی‌گرم بر لیتر بود.

همان‌طور که در جدول ۱ نشان داده شده است، پس از اعمال گرسنگی بین تیمارها در میزان گلبول قرمز، گلبول سفید و هماتوکریت اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P < 0/05$). به طوری که بیشترین مقدار گلبول قرمز و هماتوکریت در تیمار ۲ هفته گرسنگی ($10^6/mm^3$) $893 \pm 0/58$ و $42/33 \pm 3/21$ ٪ و کمترین مقدار آنها در تیمار ۶ هفته گرسنگی ($10^6/mm^3$) $580 \pm 0/10$ و $27/0 \pm 1/0$ مشاهده شد ($P < 0/05$). بیشترین و کمترین مقدار گلبول سفید به ترتیب در تیمار شاهد ($10^3/mm^3$) $17/8 \pm 0/1$ و ۲ هفته گرسنگی ($10^3/mm^3$) $21 \pm 0/60$ مشاهده شد ($P < 0/05$).

پس از تغذیه مجدد به مدت ۲ هفته، اختلاف معنی‌داری در میزان گلبول قرمز و گلبول سفید بین تیمارهای مختلف وجود داشت ($P < 0/05$). در میزان گلبول قرمز بین تیمار شاهد، ۴ و ۶ هفته گرسنگی اختلاف معنی‌داری

وجود داشت به طوری که بیشترین میزان متعلق به گروه شاهد ($10^6/mm^3$) $13 \pm 0/726$ بود ($P < 0/05$). تیمار ۴ و ۶ هفته گرسنگی تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند ($P > 0/05$). بیشترین مقدار فراسنجه گلبول سفید متعلق به تیمار شاهد ($10^6/mm^3$) $91 \pm 0/230$ بود که با سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری نشان داد ($P < 0/05$) و بقیه تیمارها بدون اختلاف معنی‌دار با هم، مقادیر کمتری از شاهد داشتند ($P > 0/05$).

پس از ۴ هفته تغذیه مجدد، بین تیمارها، به جز گلبول سفید، در سایر فراسنجه‌های بررسی‌شده، اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0/05$). بیشترین مقدار گلبول سفید با اختلاف معنی‌داری در تیمار دارای ۶ هفته گرسنگی ($10^3/mm^3$) $12 \pm 0/14$ و کمترین میزان در تیمار شاهد ($10^3/mm^3$) $10 \pm 0/60$ مشاهده شد ($P < 0/05$). بین تیمار شاهد و تیمارهای ۲ و ۴ هفته گرسنگی اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0/05$).

مقایسه فراسنجه‌های خونی، در هر تیمار در زمانهای مختلف نمونه‌برداری نشان داد که بیشترین میزان گلبول قرمز در تیمار ۲ هفته گرسنگی، در زمان پس از گرسنگی ($10^6/mm^3$) $893 \pm 0/58$ مشاهده شد ($P < 0/05$) و در بقیه زمان‌ها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0/05$). تیمار ۴ هفته گرسنگی، روند مشخصی نشان نداد، به طوری که پس از گرسنگی افزایش، پس از دو هفته تغذیه مجدد کاهش یافته ($P < 0/05$) و به میزان اولیه (شروع آزمایش) رسید، اما پس از ۴ هفته تغذیه مجدد، افزایش یافت و بیشترین میزان، در این زمان مشاهده شد ($P < 0/05$). در تیمار ۶ هفته گرسنگی بیشترین میزان پس از ۴ هفته تغذیه ($P < 0/05$) و بقیه تیمارها بدون اختلاف معنی‌دار با یکدیگر کمتر از این مقدار مشاهده شدند ($P > 0/05$). در تیمار شاهد، بیشترین میزان گلبول سفید پس از ۲ هفته تغذیه و کمترین میزان در ابتدای دوره و پس از ۴ هفته تغذیه مجدد مشاهده شد ($P < 0/05$). در تیمارهای دارای گرسنگی نیز در زمانهای مختلف، اختلاف معنی‌داری در میزان گلبول سفید دیده شد به طوری که در تیمارهای مختلف گرسنگی، کمترین میزان در ابتدای دوره و بیشترین میزان پس از گرسنگی مشاهده شد ($P < 0/05$).

جدول ۱: متغیرهای خونی بچه ماهی آزاد دریای خزر پس از اعمال دوره های گرسنگی و تغذیه مجدد

شاخص	تیمارها	شروع آزمایش	پس از گرسنگی	پس از ۲ هفته تغذیه مجدد	پس از ۴ هفته تغذیه مجدد
RBC ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	شاهد	۰/۶۳ ± ۰/۱۴ ^a	۰/۶۴ ± ۰/۹۱ ^{Aa}	۰/۷۲ ± ۰/۱۳ ^{Ba}	۰/۹۳ ± ۰/۸۹ ^b
گلبول قرمز	۲ هفته گرسنگی	۰/۶۳ ± ۰/۱۴ ^a	۰/۸۹ ± ۰/۵۸ ^{Cb}	۰/۶۳ ± ۰/۸۰ ^{ABa}	۰/۷۹ ± ۰/۷۳ ^{ab}
	۴ هفته گرسنگی	۰/۶۳ ± ۰/۱۴ ^a	۰/۷۸ ± ۰/۴۸ ^{Bb}	۰/۵۷ ± ۰/۷۰ ^{Aa}	۰/۸۳ ± ۰/۱۰ ^b
	۶ هفته گرسنگی	۰/۶۳ ± ۰/۱۴ ^a	۰/۵۸ ± ۰/۱۰ ^{Aa}	۰/۵۲ ± ۰/۸۹ ^{Aa}	۰/۹۶ ± ۰/۸۱ ^b
WBC ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	شاهد	۱۰/۲۰ ± ۰/۶۰ ^a	۲۱/۰۰ ± ۰/۶۰ ^{Bb}	۲۳/۰۰ ± ۰/۹۱ ^{Bc}	۱۰/۰۰ ± ۰/۶۰ ^{Aa}
گلبول سفید	۲ هفته گرسنگی	۱۰/۲۰ ± ۰/۶۰ ^a	۱۷/۸۰ ± ۰/۹۱ ^{Ac}	۱۳/۸۰ ± ۰/۱۵ ^{Ab}	۱۲/۰۰ ± ۰/۲۴ ^{ABab}
	۴ هفته گرسنگی	۱۰/۲۰ ± ۰/۶۰ ^a	۱۹/۵۰ ± ۰/۱۵ ^{ABb}	۱۱/۶۰ ± ۰/۹۱ ^{Aa}	۱۱/۳۰ ± ۰/۱۳ ^{ABa}
	۶ هفته گرسنگی	۱۰/۲۰ ± ۰/۶۰ ^a	۱۹/۸۰ ± ۰/۱۵ ^{ABc}	۱۳/۶۰ ± ۰/۲۴ ^{Ab}	۱۴/۲۰ ± ۰/۱۲ ^{Bb}
HB (g/dl)	شاهد	۷/۹۵ ± ۰/۹۷ ^{bc}	۶/۶۰ ± ۰/۰۷ ^{ab}	۷/۳۲ ± ۰/۰۳ ^{abc}	۷/۴۲ ± ۰/۴۵ ^{abc}
هموگلوبین	۲ هفته گرسنگی	۷/۹۵ ± ۰/۹۷ ^{bc}	۸/۵۸ ± ۰/۸۸ ^c	۶/۸۹ ± ۰/۵۳ ^{abc}	۷/۹۱ ± ۰/۲۴ ^{bc}
	۴ هفته گرسنگی	۷/۹۵ ± ۰/۹۷ ^{bc}	۸/۰۳ ± ۱/۰۸ ^{bc}	۷/۰۰ ± ۰/۰۷ ^{abc}	۶/۹۷ ± ۰/۳۴ ^{abc}
	۶ هفته گرسنگی	۷/۹۵ ± ۰/۹۷ ^{bc}	۸/۰۹ ± ۲/۳۷ ^{bc}	۵/۸۱ ± ۰/۰۳ ^a	۷/۱۵ ± ۰/۶۵ ^{abc}
HCT (%)	شاهد	۳۲/۰۰ ± ۱/۰۰ ^a	۳۸/۰۰ ± ۱/۰۰ ^{BCb}	۳۳/۶۶ ± ۱/۱۵ ^a	۳۹/۳۳ ± ۳/۲۱ ^b
هماتوکریت	۲ هفته گرسنگی	۳۲/۰۰ ± ۱/۰۰ ^{ab}	۴۲/۰۳ ± ۳/۲۱ ^{Cc}	۲۹/۶۶ ± ۵/۶۸ ^a	۳۸/۰۰ ± ۲/۶۴ ^{bc}
	۴ هفته گرسنگی	۳۲/۰۰ ± ۱/۰۰ ^{ab}	۳۴/۳۳ ± ۳/۰۵ ^{Bab}	۲۸/۰۰ ± ۶/۰۸ ^a	۳۹/۰۰ ± ۳/۰۶ ^b
	۶ هفته گرسنگی	۳۲/۰۰ ± ۱/۰۰ ^b	۲۷/۰۰ ± ۱/۰۰ ^{Aa}	۲۹/۳۳ ± ۰/۵۷ ^a	۳۷/۳۳ ± ۲/۰۸ ^c
MCV (fl)	شاهد	۵۶۰/۴۲ ± ۱۲۰/۴۲ ^{bc}	۶۰۰/۷۹ ± ۷۵/۸۵ ^c	۴۶۳/۵۸ ± ۸/۵۰ ^{abc}	۴۲۸/۴۳ ± ۶۷/۵۷ ^{ab}
حجم متوسط گلبول قرمز	۲ هفته گرسنگی	۵۶۰/۴۲ ± ۱۲۰/۴۲ ^{bc}	۴۷۳/۷۴ ± ۳۲/۸۴ ^{abc}	۴۶۷/۷۴ ± ۵۵/۸۷ ^{abc}	۴۸۲/۲۳ ± ۶۲/۰۵ ^{abc}
	۴ هفته گرسنگی	۵۶۰/۴۲ ± ۱۲۰/۴۲ ^{bc}	۴۳۷/۷۹ ± ۱۳/۲۸ ^{ab}	۴۹۳/۷۳ ± ۱۲۳/۸۲ ^{abc}	۴۷۷/۰۲ ± ۹۳/۵۱ ^{abc}
	۶ هفته گرسنگی	۵۶۰/۴۲ ± ۱۲۰/۴۲ ^{bc}	۴۶۵/۸۰ ± ۲۵/۲۷ ^{abc}	۵۷۷/۱۰ ± ۸۱/۰۲ ^b	۳۸۸/۲۸ ± ۱۴/۹۴ ^a
MCH (Pg)	شاهد	۱۲۸/۵۶ ± ۲۰/۵۶ ^{de}	۱۰۴/۴۴ ± ۱۳/۳۰ ^{abcd}	۱۰۰/۹۷ ± ۵/۵۸ ^{abcd}	۷۸/۹۹ ± ۱۱/۰۰ ^{ab}
غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی	۲ هفته گرسنگی	۱۲۸/۵۶ ± ۲۰/۵۶ ^{de}	۹۶/۱۰ ± ۱۰/۱۸ ^{abcd}	۱۱۰/۲۵ ± ۱۹/۱۰ ^{bcde}	۱۰۰/۱۶ ± ۷/۱۹ ^{abcd}
	۴ هفته گرسنگی	۱۲۸/۵۶ ± ۲۰/۵۶ ^{de}	۱۰۳/۳۵ ± ۲۰/۲۲ ^{ab}	۱۴۲/۹۳ ± ۲/۴۹ ^e	۸۵/۰۲ ± ۱۱/۸۳ ^{abc}
	۶ هفته گرسنگی	۱۲۸/۵۶ ± ۲۰/۵۶ ^{de}	۱۰۴/۰۰ ± ۴۳/۵۱ ^{ab}	۱۱۴/۶۹ ± ۱۸/۶۴ ^{cde}	۸۴/۴۴ ± ۷/۰۱ ^a
MCHC (% غلظت)	شاهد	۲۴/۹۱ ± ۳/۵۳ ^b	۱۷/۳۸ ± ۰/۴۴ ^a	۲۱/۷۷ ± ۰/۸۲ ^a	۱۸/۴۷ ± ۱/۳۵ ^a
متوسط گلبولهای قرمز	۲ هفته گرسنگی	۲۴/۹۱ ± ۳/۵۳	۲۰/۴۱ ± ۳/۲۷	۲۳/۶۸ ± ۳/۸۲	۲۰/۹۱ ± ۲/۰۱
	۴ هفته گرسنگی	۲۴/۹۱ ± ۳/۵۳	۲۳/۶۹ ± ۵/۲۷	۲۵/۷۷ ± ۵/۲۴	۱۷/۹۴ ± ۰/۹۶
	۶ هفته گرسنگی	۲۴/۹۱ ± ۳/۵۳ ^{ab}	۲۹/۸۰ ± ۷/۶۶ ^b	۱۹/۸۲ ± ۰/۴۲ ^a	۱۹/۹۵ ± ۱/۲۴ ^a

حروف کوچک و بزرگ بترتیب نشان دهنده اختلاف معنی دار در ردیف و ستون در هر شاخص می باشند ($P < 0.05$).

درصد هماتوکریت در تیمارهای شاهد و دارای ۲ هفته گرسنگی، پس از گرسنگی افزایش و در تیمار ۶ هفته گرسنگی کاهش یافت ($P < 0.05$).

در هر سه تیمار مذکور، درصد هماتوکریت پس از دو هفته تغذیه مجدد با ابتدای آزمایش تفاوت معنی‌داری نشان نداد ($P > 0.05$) و در تیمار ۴ هفته گرسنگی در زمان ابتدای آزمایش، پس از گرسنگی و پس از ۲ هفته تغذیه مجدد تفاوت معنی‌داری نشان نداد ($P > 0.05$).

اما پس از ۴ هفته تغذیه مجدد به طور معنی‌داری افزایش یافت ($P < 0.05$). میزان MCHC (غلظت متوسط گلبول قرمز) در تیمار شاهد و ۶ هفته گرسنگی در زمانهای مختلف نمونه‌برداری، اختلاف معنی‌داری داشت ($P < 0.05$). در تیمار شاهد، بیشترین میزان در ابتدای دوره مشاهده شد و بقیه زمان‌ها بدون اختلاف معنی‌دار، کمتر مشاهده شد ($P > 0.05$). در تیمار ۶ هفته گرسنگی، پس از گرسنگی بیشترین و پس از ۲ و ۴ هفته تغذیه مجدد، کمترین میزان مشاهده شد.

در زمان پس از گرسنگی، بیشترین میزان هموگلوبین در تیمار ۲ هفته گرسنگی (8.58 ± 0.88 g/dl) مشاهده شد که فقط با تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری نشان داد ($P < 0.05$). پس از ۲ و ۴ هفته تغذیه مجدد بیشترین مقدار هموگلوبین در تیمار شاهد (به ترتیب ۷/۳۲ ± ۰/۰۲ و ۷/۴۲ ± ۰/۴۵) مشاهده شد که با تیمارهای مختلف گرسنگی تفاوت معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$). در زمان پس از گرسنگی، بیشترین میزان MCV (حجم متوسط گلبول قرمز) در تیمار شاهد (60.79 ± 75.85) و پس از ۲ هفته تغذیه مجدد، بیشترین مقدار این فراسنجه در تیمار ۶ هفته گرسنگی (57.71 ± 81.02 Fl) مشاهده شد که با سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$) و پس از ۴ هفته تغذیه مجدد، کمترین میزان MCV در تیمار ۶ هفته گرسنگی (38.82 ± 14.94 Fl) مشاهده شد که با سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری نشان نداد ($P > 0.05$). پس از گرسنگی، کمترین میزان MCH (غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی) در تیمار دارای ۲ هفته گرسنگی (96.10 ± 10.18) به دست آمد که با سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$). بیشترین میزان MCH

(غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی) پس از ۲ هفته تغذیه مجدد در تیمار دارای ۴ هفته گرسنگی ($2/49 \pm Pg$) به دست آمد با سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری نشان نداد ($P > 0.05$). پس از ۴ هفته تغذیه مجدد، کمترین میزان MCH در تیمار دارای ۶ هفته گرسنگی ($84/44 \pm 7/01$ Pg) مشاهده شد که با سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری نشان نداد ($P > 0.05$). آنالیز واریانس دوطرفه نشان داد که اثر زمان در همه فراسنجه‌ها معنی‌دار بود ($P < 0.05$), اثر دوره‌های مختلف گرسنگی به جز در فراسنجه‌های گلبول سفید و هماتوکریت معنی‌دار نبود ($P > 0.05$). اثر متقابل زمان و دوره‌های مختلف گرسنگی به جز در فراسنجه‌های هموگلوبین، MCV و MCH در بقیه فراسنجه‌ها معنی‌دار بود ($P < 0.05$).

طبق جدول ۲، پس از گرسنگی میزان آلبومین سرم بین تیمارها اختلاف معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$). پس از تغذیه مجدد به مدت ۲ هفته، بین تیمارهای مختلف گرسنگی و تیمار شاهد، اختلاف معنی‌داری در میزان آلبومین وجود داشت ($P < 0.05$). به طوری که کمترین میزان آلبومین در تیمار شاهد ($1/21 \pm 0/26$ g/dl) و بقیه تیمارها بدون اختلاف معنی‌دار با هم ($P > 0.05$), بیشتر از شاهد بود ($P < 0.05$). میزان آلبومین در تیمارهای مختلف گرسنگی، پس از ۴ هفته تغذیه، بدون اختلاف معنی‌دار، کمتر از شاهد مشاهده شد ($P > 0.05$). در تیمار ۲ هفته گرسنگی در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری، اختلاف معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$). در تیمار شاهد، در زمانهای مختلف نمونه‌برداری، اختلاف معنی‌داری مشاهده شد، به طوری که کمترین میزان پس از ۲ هفته تغذیه و بیشترین میزان پس از ۴ هفته تغذیه مشاهده شد ($P < 0.05$). در تیمارهای ۴ و ۶ هفته گرسنگی بیشترین میزان پس از ۲ هفته تغذیه ($4/98 \pm 1/02$ و $4/63 \pm 0/96$) و کمترین آن در سایر زمان‌ها بدون اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ($P > 0.05$). کمترین میزان پروتئین تام در تیمار ۶ هفته گرسنگی، پس از اعمال گرسنگی دیده شد و بیشترین میزان در ابتدای دوره دیده شد ($P < 0.05$). کمترین میزان گلوکز نیز در تیمار ۶ هفته گرسنگی و بلافاصله پس از اعمال گرسنگی دیده شد و بیشترین میزان آن، در تیمار ۶ هفته گرسنگی پس از ۲ هفته تغذیه مشاهده شد ($P < 0.05$).

جدول ۲: فراسنجه های بیوشیمیایی سرم بچه ماهی آزاد دریای خزر پس از اعمال دوره های گرسنگی و تغذیه مجدد

شاخص	تیمار	شروع آزمایش	پس از گرسنگی	پس از ۲ هفته تغذیه	پس از ۴ هفته تغذیه
آلبومین (g/dl)	شاهد	۱/۶۷ ± ۰/۴۷ ^{ab}	۲/۷۸ ± ۱/۱۷ ^b	۱/۲۱ ± ۰/۲۶ ^{Aa}	۲/۸۶ ± ۰/۶۲ ^b
	۲ هفته گرسنگی	۱/۶۷ ± ۰/۴۷	۲/۵۴ ± ۱/۰۳	۳/۸۲ ± ۲/۳۱ ^B	۲/۱۷ ± ۰/۳۳
	۴ هفته گرسنگی	۱/۶۷ ± ۰/۴۷ ^a	۲/۴۳ ± ۰/۱۸ ^a	۴/۹۸ ± ۱/۰۲ ^{Bb}	۲/۶۱ ± ۰/۳۱ ^a
	۶ هفته گرسنگی	۱/۶۷ ± ۰/۴۷ ^a	۲/۰۷ ± ۰/۳۰ ^a	۴/۶۳ ± ۰/۹۶ ^{Bb}	۲/۳۱ ± ۰/۵۱ ^a
پروتئین تام (mg/dl)	شاهد	۴/۰۱ ± ۰/۰۷ ^d	۳/۷۹ ± ۱/۱۲ ^{cd}	۳/۴۶ ± ۰/۵۵ ^{bcd}	۳/۷۴ ± ۰/۴۵ ^{cd}
	۲ هفته گرسنگی	۴/۰۱ ± ۰/۰۷ ^d	۲/۴۸ ± ۰/۶۵ ^{ab}	۳/۵۴ ± ۰/۴۸ ^{bcd}	۳/۶۶ ± ۰/۱۸ ^{bcd}
	۴ هفته گرسنگی	۴/۰۱ ± ۰/۰۷ ^d	۱/۹۳ ± ۱/۵۵ ^{ab}	۳/۲۷ ± ۰/۴۸ ^{bcd}	۳/۵۶ ± ۰/۳۱ ^{bcd}
	۶ هفته گرسنگی	۴/۰۱ ± ۰/۰۷ ^d	۱/۷۱ ± ۰/۸۸ ^a	۲/۹۵ ± ۰/۲۶ ^{abcd}	۳/۷۹ ± ۰/۶۷ ^{cd}
گلوکز (mg/dl)	شاهد	۵۴/۲۴ ± ۳/۸۶ ^{ab}	۵۱/۵۷ ± ۲/۵۹ ^{ab}	۵۳/۱۴ ± ۴/۴۸ ^{ab}	۶۷/۴۵ ± ۲۱/۰۷ ^{bcd}
	۲ هفته گرسنگی	۵۴/۲۴ ± ۳/۸۶ ^{ab}	۴۳/۶۲ ± ۱۲/۸۴ ^{ab}	۶۹/۸۱ ± ۱۰/۶۸ ^{bcd}	۷۰/۵۰ ± ۲۸/۵۲ ^{cd}
	۴ هفته گرسنگی	۵۴/۲۴ ± ۳/۸۶ ^{ab}	۴۲/۱۱ ± ۵/۳۵ ^{ab}	۸۰/۵۰ ± ۶/۴۳ ^{cd}	۶۱/۱۶ ± ۱۱/۴۸ ^{abc}
	۶ هفته گرسنگی	۵۴/۲۴ ± ۳/۸۶ ^{ab}	۴۱/۳۵ ± ۱/۴۴ ^a	۸۳/۶۴ ± ۸/۹۰ ^d	۵۸/۸۰ ± ۹/۶۸ ^{ab}

حروف کوچک و بزرگ بترتیب نشان دهنده اختلاف معنی دار در ردیف و ستون در هر شاخص می باشند ($P < 0.05$).

جدول ۳: تجزیه تقریبی بدن بچه ماهی آزاد دریای خزر پس از اعمال دوره های گرسنگی و تغذیه مجدد

شاخص	تیمارها	شروع آزمایش	پس از گرسنگی	پس از ۲ هفته تغذیه	پس از ۴ هفته تغذیه
پروتئین %	شاهد	۵۲/۶۷ ± ۰/۱۷ ^c	۴۸/۱۲ ± ۰/۸۷ ^{Aa}	۵۲/۰۸ ± ۱/۱۲ ^{Bc}	۵۰/۵۷ ± ۰/۱۷ ^{Ab}
	۲ هفته گرسنگی	۵۲/۶۷ ± ۰/۱۷ ^b	۵۴/۲۵ ± ۱/۰۵ ^{Bc}	۵۲/۸۷ ± ۰/۵۲ ^{Ba}	۵۴/۶۰ ± ۰/۷۰ ^{Bc}
	۴ هفته گرسنگی	۵۲/۶۷ ± ۰/۱۷ ^a	۵۷/۰۵ ± ۰/۳۵ ^{Cc}	۵۳/۵۵ ± ۰/۷۰ ^{CBb}	۵۷/۰۵ ± ۰/۳۵ ^{Cc}
	۶ هفته گرسنگی	۵۲/۶۷ ± ۰/۱۷ ^a	۶۵/۹۷ ± ۰/۱۷ ^{Dc}	۵۴/۶۰ ± ۰/۳۵ ^{Cb}	۵۲/۰۶ ± ۱/۶۶ ^{Aa}
چربی %	شاهد	۲۶/۰۰ ± ۱/۰۰ ^a	۳۴/۰۰ ± ۱/۰۰ ^{Dc}	۳۴/۰۰ ± ۱/۰۰ ^{Bb}	۳۴/۵۰ ± ۱/۵۰ ^{Cc}
	۲ هفته گرسنگی	۲۶/۰۰ ± ۱/۰۰ ^a	۲۶/۰۰ ± ۱/۰۰ ^{Ca}	۳۰/۵۰ ± ۰/۵۰ ^{Bc}	۲۹/۰۰ ± ۱/۰۰ ^{Bb}
	۴ هفته گرسنگی	۲۶/۰۰ ± ۱/۰۰	۲۳/۵۰ ± ۰/۵۰ ^B	۲۵/۵۰ ± ۲/۵۰ ^A	۲۷/۰۰ ± ۱/۰۰ ^A
	۶ هفته گرسنگی	۲۶/۰۰ ± ۱/۰۰ ^c	۱۳/۵۰ ± ۰/۵۰ ^{Aa}	۲۳/۵۰ ± ۱/۵۰ ^{Ab}	۲۶/۵۰ ± ۰/۵۰ ^{Ac}
خاکستر %	شاهد	۸/۹۱ ± ۰/۰۱ ^c	۵/۰۰ ± ۱/۰۰ ^{Aa}	۶/۸۳ ± ۱/۰۰ ^{ABb}	۶/۰۰ ± ۱/۰۰ ^{ba}
	۲ هفته گرسنگی	۸/۹۱ ± ۰/۰۱ ^b	۸/۹۱ ± ۱/۰۰ ^{Bb}	۵/۸۸ ± ۱/۰۰ ^{Aa}	۸/۰۰ ± ۱/۰۰ ^b
	۴ هفته گرسنگی	۸/۹۱ ± ۰/۰۱ ^a	۱۰/۶۷ ± ۱/۰۰ ^{CBb}	۸/۵۵ ± ۱/۰۳ ^{CDa}	۷/۵۴ ± ۰/۹۹ ^a
	۶ هفته گرسنگی	۸/۹۱ ± ۰/۰۱	۱۱/۴۲ ± ۱/۰۰ ^C	۱۰/۰۰ ± ۱/۰۰ ^D	۸/۴۹ ± ۱/۰۰
رطوبت %	شاهد	۷۷/۵۳ ± ۰/۷۸ ^d	۷۱/۳۴ ± ۰/۹۹ ^{Ab}	۶۹/۰۸ ± ۱/۰۰ ^{Aa}	۷۴/۳۵ ± ۱/۰۰ ^c
	۲ هفته گرسنگی	۷۷/۵۳ ± ۰/۷۸ ^b	۷۱/۹۲ ± ۱/۰۰ ^{Aa}	۶۹/۰۹ ± ۱/۰۰ ^{Ab}	۷۳/۴۳ ± ۱/۰۰ ^a
	۴ هفته گرسنگی	۷۷/۵۳ ± ۰/۷۸ ^b	۷۴/۹۲ ± ۱/۰۰ ^{Ba}	۷۵/۰۰ ± ۱/۰۰ ^{Ba}	۷۴/۰۳ ± ۱/۰۰ ^a
	۶ هفته گرسنگی	۷۷/۵۳ ± ۰/۷۸	۷۷/۶۸ ± ۱/۰۰ ^C	۷۷/۱۲ ± ۱/۰۱ ^C	۷۵/۴۱ ± ۱/۰۰

بحث و نتیجه گیری

نتایج این تحقیق نشان داد استراتژی‌های تغذیه‌ای باعث تغییر در عملکرد فراسنجه های خونی ماهی آزاد دریای خزر می‌شود. اعمال گرسنگی و تغذیه جبرانی بر ماهی *Channa punctatus* Bloch به این نتیجه منجر شد که تمامی فراسنجه های خونی شامل هموگلوبین، گلبول قرمز، گلبول سفید، MCV، MCH و MCHC در ماهیهای گرسنه به مدت ۵ هفته افزایش پیدا کرد، اما ادامه گرسنگی تا ۶ هفته باعث کاهش این فراسنجه ها و رسیدن به زیر سطح کنترل شد و با تغذیه مجدد به مدت ۲ هفته مقادیر سلول‌ها به حالت طبیعی برگشتند. این بررسی نشان می‌دهد که پاسخ دفاعی یک روند افزایشی را در اکثر سلول‌های خونی پس از گرسنگی نشان می‌دهد (Mahajan & Dheer, 1983). مطالعه حاضر با نتیجه این تحقیق تا حدی هم‌پوشانی داشت، به طوری که اعمال گرسنگی تا ۴ هفته باعث افزایش معنی‌دار برخی سلولهای خونی نسبت به گروه کنترل شد (گلبول قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت)، اما با ادامه گرسنگی تا ۶ هفته، ماهی قادر به مقابله با این گرسنگی نبود. در انتهای آزمایش در تیمارهای گرسنگی میزان گلبول سفید بیشتر از کنترل مشاهده شد ($P < 0/05$). در تحقیق Caruso و همکاران (۲۰۱۲) روی ماهی *Red porgy (Pagrus pagrus)*، هماتوکریت پس از گرسنگی به مدت ۲ هفته افزایش یافت. در تحقیق حاضر نیز هماتوکریت در تیمارهای ۲ و ۴ هفته گرسنگی، پس از گرسنگی افزایش یافت. در مطالعه کاروسو و همکاران در پایان تغذیه مجدد (۷-۱۵ روز) میزان هماتوکریت در ماهیانی که گرسنگی داشتند، کمتر از تیمار دارای تغذیه کامل (کنترل) مشاهده شد. اما در مطالعه حاضر در پایان دوره (پس از ۴ هفته تغذیه) اختلافی بین تیمارها مشاهده نشد ($P > 0/05$). که می‌تواند با تغذیه مجدد طولانی‌تر مرتبط باشد. در تحقیق Caruso و همکاران (۲۰۱۰) بر روی مارماهی اروپایی (*Anguilla anguilla*)، هموگلوبین تحت تاثیر گرسنگی قرار نگرفت، اما هماتوکریت در ماهی که دستخوش گرسنگی شده بود، کمتر مشاهده شد. همواره نتایج متناقضی در رابطه با هموگلوبین و هماتوکریت در طی گرسنگی وجود داشته است. در

آنالیز واریانس دوطرفه نشان داد که اثر زمان بر همه متغیرها معنی‌دار بود ($P < 0/05$) اما اثر دوره‌های مختلف گرسنگی در هیچ‌کدام از متغیرها معنی‌دار نبود ($P > 0/05$). و اثر متقابل زمان و دوره‌های مختلف گرسنگی در فراسنجه های گلوکز و پروتئین تام معنی‌دار نبود ($P > 0/05$).

پس از اعمال گرسنگی در میزان پروتئین، چربی، خاکستر و رطوبت اختلاف معنی‌داری وجود داشت (جدول ۳، $P < 0/05$). بیشترین میزان پروتئین در تیمار ۶ هفته گرسنگی و کمترین آن در تیمار ۴ هفته گرسنگی مشاهده شد. بیشترین میزان خاکستر و رطوبت در تیمار ۶ هفته گرسنگی و کمترین آن در تیمار شاهد مشاهده شد. پس از تغذیه مجدد به مدت ۲ هفته در همه‌ی متغیرهای اندازه‌گیری شده اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P < 0/05$). بیشترین میزان پروتئین در تیمار ۶ هفته گرسنگی و کمترین در تیمار شاهد مشاهده شد، اما تیمارهای ۲ و ۴ هفته گرسنگی با تیمار شاهد تفاوت معنی‌دار نشان ندادند ($P < 0/05$). بیشترین میزان چربی در گروه کنترل و کمترین میزان آن در تیمار ۶ هفته گرسنگی مشاهده شد. بیشترین میزان خاکستر و رطوبت در تیمار ۶ هفته گرسنگی و کمترین میزان رطوبت در تیمار شاهد و کمترین میزان خاکستر در تیمار ۲ هفته گرسنگی مشاهده شد. پس از ادامه تغذیه به مدت ۴ هفته، پروتئین و چربی بین تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت ($P < 0/05$)، اما در میزان خاکستر و رطوبت اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0/05$). بیشترین میزان پروتئین مربوط به تیمار ۴ هفته گرسنگی و کمترین آن مربوط به گروه شاهد بود و در تمام تیمارهای دارای گرسنگی، پس از ۴ هفته تغذیه، محتوی پروتئین نسبت به شاهد بیشتر بودند. بیشترین میزان چربی مربوط به گروه شاهد و کمترین آن مربوط به تیمار ۶ هفته گرسنگی بود. آنالیز واریانس دوطرفه نشان داد که اثر زمان، اثر دوره‌های مختلف گرسنگی و اثر متقابل زمان و دوره‌های مختلف گرسنگی در همه فاکتورهای تجزیه تقریبی بدن معنی‌دار بود ($P < 0/05$).

تحقیق Johansson-Sjoberck و همکاران (۱۹۷۵)، روی مارماهی اروپایی (*Anguilla anguilla*)، هماتوکریت در مقابله با گرسنگی (۴۷، ۹۰ و ۱۴۷ روز) افزایش پیدا کرد. در مطالعه حاضر، در انتهای آزمایش پس از ۴ هفته تغذیه مجدد میزان اکثر فراسنجه های خونی بدون اختلاف معنی دار با کنترل مشاهده شد که نشان دهنده سازگاری بچه ماهی آزاد دریای خزر با گرسنگی است، و همچنین ممکن است نشان دهد که اعمال درست دوره گرسنگی و تغذیه مجدد، تاثیر منفی بر متغیرهای خونی نخواهد داشت.

در تحقیق Caruso و همکاران (۲۰۱۰) کاهش معنی داری در سطح گلوکز خون در مارماهی اروپایی (*Anguilla Anguilla*)، بعد از گرسنگی ۱۰ هفته ای مشاهده شد. به علت وابستگی برخی اندام ها به گلوکز خون، انرژی متابولیسمی بیشتر از مواد چربی تامین می شود و همواره مقدار پایه ای از گلوکز خون مورد نیاز است. کاهش قند خون در گرسنگی کوتاه مدت می تواند ناشی از افزایش گلیکولیز و گلیکونئوزنیک و از طرفی به دلیل تغییرات فیزیولوژیک از راه گلیکونئوزنیک باشد که به طور فعال انجام نمی شود (Blasco et al., 1992). در تحقیق حاجی مرادی و همکاران (۱۳۸۶)، روی ماهی قزل آلاي رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) مشاهده شد که پس از ۱۰ روز گرسنگی، سطح گلوکز خون ماهی قزل آلاي رنگین کمان کاهش می یابد و با ادامه گرسنگی تا ۶۰ روز، اختلاف معنی دار با شروع آزمایش حفظ می شود. Weatherley & Gill (۱۹۸۱)، تاثیر گرسنگی بر میزان گلوکز خون را معنی دار گزارش کردند. نتایج بدست آمده در تحقیق حاضر با نتایج این دانشمندان هم خوانی داشت، اما در گزارش های برخی دانشمندان مانند Ince & Thrope (۱۹۷۶)، روی اردک ماهی مشخص شده است که تغییرات میزان گلوکز در گرسنگی های کوتاه مدت بعد از چند هفته یا یک ماه معنی دار نمی باشد. در تحقیق رحمتی و همکاران (۱۳۸۹)، روی بچه ماهی آزاد دریای خزر، این نتیجه به دست آمد که سطوح گلوکز در تیمار دارای گرسنگی کمتر از گروه شاهد بود و پس از ۲-۳ هفته تغذیه مجدد مقدار گلوکز افزایش یافت، اما به

تیمار تغذیه کامل نرسید، نتیجه مطالعه حاضر با این تحقیق مغایرت داشت. در تحقیق حاضر میزان گلوکز سرم خون پس از اعمال گرسنگی کاهش یافت که این کاهش با طول دوره گرسنگی رابطه مستقیم داشت. پس از ۲ هفته تغذیه مجدد مقدار این فراسنجه از گروه شاهد بیشتر مشاهده شد که می تواند به علت رسیدن مواد غذایی به یکباره پس از گرسنگی باشد. پس از ادامه تغذیه به مدت ۴ هفته مقدار گلوکز بدون اختلاف معنی دار به گروه شاهد رسید، به نظر می رسد ۴ هفته ادامه تغذیه برای رسیدن گلوکز به تیمار تغذیه کامل کافی می باشد. در تحقیق حاجی مرادی و همکاران (۱۳۸۶)، نتایج مربوط به پروتئین روند مشخصی نشان نداد. میزان پروتئین خون در بین ۲ گروه تغذیه شده و گرسنه در برداشت های ۴۰-۶۰ روزگی تفاوت معنی داری نداشت ($P > 0.05$). طبق نتایج بدست آمده، ماهی قزل آلاي رنگین کمان در زمان گرسنگی، استفاده از ذخایر پروتئینی به عنوان سومین اولویت پس از گلیکوژن و چربی برای کسب انرژی مورد نیاز می باشد. در مطالعه حاضر، نیز پس از اعمال گرسنگی، میزان پروتئین سرم در تیمارهای دارای گرسنگی کاهش یافت که پس از تغذیه مجدد به مدت کوتاهی جبران شد. به طور کلی، می توان نتیجه گرفت که اگرچه گرسنگی دارای اثرات منفی بر فراسنجه های خون شناسی و بیوشیمیایی سرم بچه ماهی آزاد دریای خزر می باشد، اما بنظر می رسد اگر دوره تغذیه مجدد از دوره گرسنگی بیشتر باشد و گرسنگی به صورت اصولی اعمال شود، نه تنها ماهی قادر به جبران این اثرات منفی می باشد، بلکه ماهی با شرایط گرسنگی سازگار می شود (رحمتی و همکاران، ۱۳۸۹).

در تحقیق صورت گرفته بر روی ماهی کلمه (*Rutilus caspicus*) با ۴ تیمار آزمایشی که در فواصل ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت متحمل دوره های متناوب گرسنگی و سیری شدند و همچنین در مطالعه ای که روی بچه ماهی هالیبوت اقیانوس اطلس (*Hippoglossus hippoglossus*) با تیمارهای مختلف شامل ۱۱ روز گرسنگی-۲۰ روز تغذیه مجدد، ۱۴ روز گرسنگی-۲۲ روز تغذیه مجدد، ۱۶ روز گرسنگی-۲۸ روز تغذیه مجدد و ۳۲ روز گرسنگی-۶۷ روز تغذیه مجدد انجام شد، در انتهای دوره، تجزیه

تقریبی بدن بین تیمارها و شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت (طاهری و علی‌اصغری، ۱۳۹۱؛ Heide et al., 2006). Azodi و همکاران (۲۰۱۳) با ایجاد بترتیب ۱، ۱ و ۳ روز گرسنگی و ۲، ۴ و ۱۲ روز غذادهی مجدد روی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) به این نتیجه دست یافتند که پروتئین، چربی، خاکستر و رطوبت پس از گرسنگی یا تغذیه مجدد تفاوتی بین تیمارها و شاهد نشان نداد. نتایج تحقیق حاضر با این مطالعات مغایر بود. در تحقیق Hur و Lee (۲۰۱۵)، که اثر وقفه‌های غذایی به مدت (۰-۸۰ روز) و تغذیه مجدد به مدت (۸۰-۱۸۵ روز) را بر تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) بررسی کردند، مشاهده شد که در پایان گرسنگی پروتئین و چربی کاهش و خاکستر و رطوبت افزایش یافتند. در انتهای دوره پس از تغذیه مجدد، چربی در گروه‌های گرسنه کاهش یافت، اما بین پروتئین و خاکستر بین تیمارها و شاهد تفاوتی نبود. در تحقیق حاضر، گرسنگی باعث کاهش چربی شد که با این تحقیق همخوانی داشت. Xie و همکاران (۲۰۰۱)، اثر صفر، ۱ و ۲ هفته گرسنگی و ۵ هفته تغذیه مجدد را بر ماهی کپور لجنی (*Carassius auratus gibelio*) بررسی کردند و به این نتیجه دست یافتند که چربی در گروه‌های گرسنه کاهش یافته و پروتئین در گروه‌های گرسنه حتی تا یک هفته پس از تغذیه مجدد افزایش یافت. نتیجه تحقیق حاضر با این نتایج همخوانی داشت، اما در تحقیق Xie و همکاران (۲۰۰۱) در پایان ۵ هفته تغذیه مجدد از لحاظ پروتئین تفاوتی بین تیمارها و شاهد مشاهده نشد که می‌تواند به مدت زمان بیشتر (۵ هفته) تغذیه مجدد نسبت به تحقیق حاضر (۴ هفته) مرتبط باشد. محدودیت غذایی کوتاه‌مدت بدون اینکه تاثیر بازدارنده بر رشد داشته باشد، میتواند موجب بهبود کیفیت تولید با کاهش چربی ماهیچه در محصول نهایی شوند. (Einen et al., 1998; Rasmussen et al., 2000). در تحقیق حاضر نیز چربی عضله کاهش و پروتئین افزایش یافته است. این نتیجه نشان‌دهنده این است که ماهی آزاد دریای خزر در زمان گرسنگی، سایر منابع را برای تامین انرژی مورد نیاز بدن به پروتئین ترجیح می‌دهد، اما در صورت طولانی-

شدن دوره گرسنگی، استفاده از این منبع افزایش می‌یابد که جبران آن نیز به مدت زمان تغذیه جبرانی نیازمند می‌باشد (حاجی‌مرادی و همکاران، ۱۳۸۶). کاهش چربی پس از گرسنگی یک نوع پاسخ در جبران یا تصحیح خسارت قطع غذاست (Hur & Lee, 2015). نتایج بدست آمده از این تحقیق نشان داد که اگرچه دوره‌های مختلف گرسنگی به مدت ۲، ۴ و ۶ هفته موجب تغییر برخی از متغیرهای خونی، سرمی و تجزیه تقریبی بدن گردید، اما تغییرات ایجاد شده در میزان فراسنجه های خونی و سرمی در تیمار ۲ هفته گرسنگی و تغییرات ایجاد شده در تجزیه تقریبی بدن در تیمار ۴ هفته گرسنگی اختلاف معنی‌داری با کنترل نشان نداد که نشان می‌دهد بچه‌ماهی آزاد دریای خزر می‌تواند در صورت بکارگیری دوره مناسب تغذیه مجدد با دوره گرسنگی سازگار شود. شایان ذکر است که تاثیر دوره‌های گرسنگی و تغذیه مجدد بر سایر جنبه‌های فیزیولوژیک ماهی مورد نظر مانند رشد، آنزیم‌های گوارشی و ایمنی نیز می‌بایست مورد بررسی قرار گیرد.

منابع

- اسلاملو، خ.، عضدی، م.، و مرشدی، و.، ۱۳۹۲. بررسی رشد جبرانی ماهی برب حلب (*Barbonymus schwanefeldi*) بعد از دوره‌های گرسنگی و غذادهی مجدد. نشریه شیلات (مجله منابع طبیعی ایران)، ۶۶: ۵۱۹-۵۲۴.
- ایمانی، ا. و ایرانپرست، ر.، ۱۳۸۸. بررسی فعالیت آنزیم‌های گوارشی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در طی دوره محرومیت غذایی و غذادهی مجدد. مجله علوم و فنون دریایی، ۸: ۲۴-۳۳.
- حاجی‌مرادی، م.، محبوبی صوفیانی، ن. و علامه فانی، ک.، ۱۳۸۶. اثر گرسنگی بر سطح کلسترول، گلوکز و پروتئین پلاسمای خون قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله علوم زیستی واحد لاهیجان، سال چهارم، ۵۹-۶۹.

- and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 161: 166-173.
- AOAC, 1997.** Official Methods of Analysis, 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, 49p.
- Afkhami, M., Ahmadi, M.R., Salarzadeh, A. and Ehsanpour, M., 2014.** Comparative efficacy of two anesthetic in the sobaity seabream, *Sparidentex hasta* (Valenciennes 1830). Comparative Clinical Pathology, 23: 841-846.
- Azodi, M., Ebrahimi, E., Farhadian, O. and Mahboobi-Soofiani, N., 2013.** Response of rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792) to short term starvation periods and refeeding. World Journal of Fish and Marine Sciences, 5: 474-480.
- Bani, A. and Vayghan, A.H., 2011.** Temporal variations in haematological and biochemical indices of the Caspian kutum, *Rutilus frisii kutum*. Ichthyological Research, 58: 126-133.
- Blasco, J., Fernández, J. and Gutiérrez, J., 1992.** Variations in tissue reserves, plasma metabolites and pancreatic hormones during fasting in immature carp (*Cyprinus carpio*). Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology, 103: 357-363.
- Boujard, T., 2000.** effect of past nutritional history and fasting on feed intake and growth in rainbow trout (*oncorhynchus mykiss*). Aquatic Living Resources, 13: 129-137.
- خدابنده، ص، مجازی امیری، ب، و عمادی شیبانی، م، ۱۳۹۲. بررسی تاثیرات گرسنگی و تغذیه مجدد در بافت کبد بچه ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*). (مجله منابع طبیعی ایران)، ۶۶: ۷۱-۸۰.
- درگاهی، ح، عظیمی، س. و شریفی، ی، ۱۳۷۵. هماتولوژی آزمایشگاهی. موسسه انتشارات امید. چاپ اول. ۳۷۶ ص.
- رحمتی، ف، فلاحتکار، ب. و خارا، ح، ۱۳۸۹. اثرات گرسنگی و تغذیه مجدد بر عملکرد رشد و فاکتورهای بیوشیمیایی خون در ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*). مجله علوم زیستی واحد لاهیجان، سال چهارم، ۵۹-۶۹.
- شیروان، س، فلاحتکار، ب، علاف نویریان، ح. و عباسعلی زاده، ع، ۱۳۹۲. تاثیر اعمال دوره‌ی طولانی مدت گرسنگی و محدودیت غذایی بر عملکرد رشد و ترکیب بدن در بچه تاسماهی سبیری (*Acipenser baerii* Brandt 1869). مجله علمی شیلات ایران، سال بیست و دوم، ۹۱-۱۰۲.
- طاهری، ح، و علی‌اصغری، م، ۱۳۹۱. تاثیر گرسنگی و رشد جبرانی روی رشد و ترکیب لاشه بچه ماهی کلمه خزری (*Rutilus rutilus caspius*). مجله بهره‌برداری و پرورش آبزیان، سال اول، ۸۱-۹۲.
- محمدنژاد شמושکی، م، مازینی، م. و منوچهری، ف، ۱۳۸۹. اثر رشد جبرانی و تاثیر گرسنگی روی شاخص‌های رشد و بازماندگی بچه ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*). فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی و تکوین جانوری، سال اول، ۴۵-۵۲.
- نادری جلودار، م. و عبدلی، ا، ۱۳۸۳. اطلس ماهیان حوزه جنوبی دریای خزر (آبهای ایران). موسسه تحقیقات شیلات ایران. ۸۰ ص.
- Abolfathi, M., Hajimoradloo, A., Ghorbani, R. and Zamani, A., 2012.** Effect of starvation and refeeding on digestive enzyme activities in juvenile roach, *Rutilus rutilus caspius*. Comparative Biochemistry

- Caruso, G., Maricchiolo, G., Micale, V., Genovese, L., Caruso, R. and Denaro, M., 2010.** Physiological responses to starvation in the European eel (*Anguilla anguilla*): effects on haematological, biochemical, non-specific immune parameters and skin structures. *Fish Physiology and Biochemistry*, 36: 71-83.
- Caruso, G., Denaro, M.G., Caruso, R., Genovese, L., Mancari, F. and Maricchiolo, G., 2012.** Short fasting and refeeding in red porgy (*Pagrus pagrus*, Linnaeus 1758): Response of some haematological, biochemical and non specific immune parameters. *Marine Environmental Research*, 81: 18-25.
- Drabkin, D., 1945.** Crystallographic and optical properties of human hemoglobin: proposal for standardization of hemoglobin. *American Journal of the Medical Sciences*. PA 19106: 268-270.
- Einen, O., Waagan, B. and Thomassen, M.S., 1998.** Starvation prior to slaughter in Atlantic salmon (*Salmo salar*): I. Effects on weight loss, body shape, slaughter-and fillet-yield, proximate and fatty acid composition. *Aquaculture*, 166: 85-104.
- Feriedrich, M. and Stepanowska, F., 2001.** effect of starvation on nutritive value of Carp (*Cyprinus carpio* L.) and selected biochemical component of its blood. *Acta Ichthyologica Et Piscatoria*, 31: 29-36.
- Heide, A., Foss, A., Stefansson, S.O., Mayer, I., Norberg, B., Roth, B., Jenssen, M.D., Nortvedt, R. and Imsland, A.K., 2006.** Compensatory growth and fillet crude composition in juvenile Atlantic halibut: effects of short term starvation periods and subsequent feeding. *Aquaculture*, 261: 109-117.
- Houston, A., 1990.** Blood and circulation. *Methods for Fish Biology*, 273-334.
- Hur, J.-w., Lee, J.-Y., 2015.** Body composition and compensatory growth in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* under different feeding intervals. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 1-12.
- Ince, B.W. and Thorpe, A., 1976.** The effects of starvation and force-feeding on the metabolism of the Northern pike, *Esox lucius* L. *Journal of Fish Biology*, 8: 79-88.
- Jobling, M., 2010.** Are compensatory growth and catch-up growth two sides of the same coin? *Aquaculture International*, 18: 501-510.
- Johansson-Sjöbeck, M.-L., Dave, G., Larsson, Å., Lewander, K. and Lidman, U., 1975.** Metabolic and hematological effects of starvation in the European eel, *Anguilla anguilla* L.—II. Hematology. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 52: 431-434.
- Kulkari, R.S. and Barad, V.S., 2015.** Effect of Starvation on Haematological and Serum Biochemical Changes in the Fresh Water Fish, *Notopterus Notopterus* (Pallas). *International Journal of Innovative Studies in Aquatic Biology and Fisheries*, 1: 24-29.
- Mahajan, C. and Dheer, T., 1983.** Haematological and haematopoietic responses to starvation in an air-breathing

- fish *Channa punctatus* Bloch. *Journal of Fish Biology*, 22: 111-123.
- Olesen, N.J. and Jorgensen, P.V., 1986.** Quantification of serum immunoglobulin in rainbow trout *Salmo gairdneri* under various environmental conditions. *Diseases of Aquatic Organisms*, 1: 183-189.
- Peterson, B.C. and Small, B.C., 2004.** Effects of fasting on circulating IGF-binding proteins, glucose, and cortisol in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Domestic Animal Endocrinology*, 26: 231-240.
- Rasmussen, B.B., Tipton, K.D., Miller, S.L., Wolf, S.E. and Wolfe, R.R., 2000.** An oral essential amino acid-carbohydrate supplement enhances muscle protein anabolism after resistance exercise. *Journal of Applied Physiology*, 88: 386-392.
- Weatherley, A. and Gill, H., 1981.** Recovery growth following periods of restricted rations and starvation in rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson. *Journal of Fish Biology*, 18: 195-208.
- Wang, Y., Cui, Y., Yang, Y., and Cai, F., 2005.** Partial compensatory growth in hybrid tilapia (*Oreochromis mossambic* × *O. niloticus*) following food deprivation. *Applied Ichthyology*, 21:389-393.
- Xie, S., Zhu, X., Cui, Y., Wootton, R.J., Lei, W. and Yang, Y., 2001.** Compensatory growth in the gibel carp following feed deprivation: temporal patterns in growth, nutrient deposition, feed intake and body composition. *Journal of Fish Biology*, 58: 999-1009.

Effects of starvation and refeeding on the hematological and serum parameters and body proximate composition of Caspian salmon (*Salmo trutta caspius*) fingerlings

Zaefarian A.¹; Yeganeh S.^{1*}, Oraji H.¹; Jani khalili Kh.¹

*skyeganeh@gmail.com

1.Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

Abstract

This study was conducted to investigate the effects of periods of starvation and refeeding on some hematological, serum parameters and whole body proximate composition in Caspian salmon (*Salmo trutta caspius*). 240 samples of the Caspian salmon with an average weight of 13.73 ± 0.63 g were kept in 300 liter polyethylene tanks. Samples were fed twice a day with Rainbow trout commercial feed to the point of satiation. This experiment lasted for 10 weeks with control (without starvation) and 3 starvation treatments including 2, 4 and 6 weeks of starvation followed by 4 weeks of refeeding with 3 replicates. During rearing period, the average of water temperature, pH and dissolved oxygen were 14.15 ± 0.27 °C, 8.44 ± 0.17 and 6.34 ± 0.24 mg/l⁻¹, respectively. At the end of starvation period, the results of blood parameters showed that starvation significantly increased red blood cells and hematocrit in treatment with 2 weeks of starvation ($0.893 \pm 0.58 \times 10^6/\text{mm}^3$) and 6 weeks of starvation (42.33 ± 3.21 %, $P < 0.05$), respectively. At the end of trial, the highest value of white blood cells belonged to 6 weeks starvation treatment ($14.2 \pm 0.12 \times 10^3/\text{mm}^3$) while the lowest ($10 \pm 0.60 \times 10^3/\text{mm}^3$) was observed in the control. Results of the biochemical serum parameters indicated the lowest amount of total protein (1.71 ± 0.88 mg/dl) and glucose (41.35 ± 1.44 mg/dl) were obtained in 6 weeks starvation treatment, right after the starvation period ($P < 0.05$). At the end of the starvation period, the whole body protein content of control was lower than other treatments ($P < 0.05$), but after 2 weeks of refeeding, whole body protein content of 2 and 4 weeks starvation treatments didn't show any significant difference compared to control ($P > 0.05$). At the end of the experiment, the lowest value of lipid belonged to starvation treatments while the highest value was observed in control ($P < 0.05$). Generally, this can be inferred that Caspian salmon fish can tolerate starvation for 2 weeks without any negative impact on blood and serum biochemical parameters and for 4 weeks on whole body proximate composition.

Keywords: Caspian salmon, starvation, refeeding, proximate composition, blood parameters

*Corresponding author